



动 物 学 研 究 1992, 13(3):208, 234
Zoological Research

ISSN 0254—5853
CN 53—1040/Q

研究简报

麻疹疫苗诱发中国仓鼠卵巢细胞(CHO-K_1)染色体畸变和基因突变的研究

THE STUDIES ON MEASLES VACCINE INDUCING CHROMOSOMAL ABERRATION AND GENE MUTATION OF CHINESE HAMSTER OVARY CELLS (CHO-K_1)

范秀媛; 刘爱华 R392-33

关键词: 麻疹疫苗, 染色体畸变, 基因突变, CHO/HGPRT系统

Key words: Measles vaccine, Chromosomal aberration, Gene mutation, CHO/HGPRT system

实验证明，麻疹病毒及其疫苗可诱发染色体畸变。近年来，病毒活疫苗诱变性的研究由细胞水平深入到基因水平，已经发现脊髓灰质炎疫苗和流感疫苗可诱发中国仓鼠细胞（V79）HGPRT位点突变，但有关麻疹疫苗的研究，还未见报道。本实验以中国仓鼠卵巢细胞（CHO）次黄嘌呤——鸟嘌呤磷酸核糖转移酶位点突变检测系统（CHO/HGPRT）检测国产麻疹疫苗的诱变性，为麻疹疫苗遗传安全性的认识提供依据。

CHO-K_1细胞系经重新克隆纯化，染色体数目20±1，倍增时间为10—16小时，克隆形成率一般在70%—100%，HGPRT$^-$自发突变频率为0—20×10^{-6}。培养基：McCoy's5A15%—10%小牛血清，青霉素100单位/毫升，硫酸链霉素为100微克/毫升。

麻疹疫苗诱变性的测定：参照Hsie等（1977）和Li等（1987）的方法。国产麻疹疫苗（上海生物制品研究所，批号：890118），滴度：4.1 $\log TCID_{50}$/0.2 ml，以完全培养基稀释，每瓶细胞接种0.2ml，接种剂量见表1。每隔15分钟摇动一次，与细胞接触2小时，再静止培养22小时。然后，（1）弃旧培养基，以无钙、镁PBS洗2次，消化细胞、计数、分散细胞及测细胞存活率；7天后，选择抗6-TG(10 μmol/l) 克隆，计算突变频率。（2）换入新鲜培养液继续培养12或24小时后，常规空气干燥法制片，观察并统计染色体畸变率，包括染色体结构和数目的异常。

结果见附表。接种的三个剂量，对细胞存活率无显著影响（P>0.05），但均能使HGPRT位点正向突变频率升高，两次实验结果一致。2.8 $\log TCID_{50}$/ml和3.1 $\log TCID_{50}$/ml组的突变频率的升高与对照组相比有统计学意义。表明HGPRT$^-$突变频率的升高与接种疫苗有关。

尽管两次实验自发和诱发突变频率的绝对值差别较明显，但结果趋势一致。类似的结果也有报道。

本文1991年4月8日收到，同年12月12日修回。

（下转第234页）

（上接第208页）

附表 麻疹疫苗诱发CHO细胞HGPRT位点正向突变

实验批号	剂量 (LogTCID$_{50}$/ml)	细胞存活率 (%)	正向突变频率 ($\times 10^{-6}$)	正向突变频率 (减去自发突变频率)	P
1	对照	100.0①	18.9	—	—
	2.5	88.9	23.8	+4.9	>0.05
	2.8②	未测	未测	—	—
	3.1	118.9	38.5	+19.6	<0.05
2	对照	100.0	0.9	—	—
	2.5	144.9	3.4	+2.5	>0.10
	2.8	99.8	11.4	+10.9	<0.001
	3.1	201.7	7.6	+6.7	<0.001

①绝对克隆形成率分别为57.6%、41.4%。

②细胞数少，不能继续实验。

经麻疹疫苗处理后12或24小时观察，染色体畸变类型主要为染色体断裂，偶见有不稳定的染色体重组。处理组和对照组相比，染色体断裂率和多倍体率均无显著差异（P>0.05）。

CHO/HGPRT系统已广泛用于工业和环境化合物的细胞遗传学评价。在我们的实验条件下，国产麻疹疫苗可诱发CHO细胞HGPRT位点基因突变；但未见麻疹疫苗诱发染色体畸变的效应。这也与过去用麻疹疫苗感染体外培养人的细胞及在小鼠骨髓细胞中观察到的结果不一致。究其原因，除了与感染细胞的种类、使用的疫苗滴度及整体动物与离体细胞体系的区别有关外，还可能与病毒诱发突变的途径有关。依据Gershenson（1986）的观点，病毒诱发基因突变的活性与病毒复制无关，而与病毒核酸有关；但染色体重组常常是由于病毒在生物体内复制，破坏了细胞（包括染色体在内）的主要组份，而表现为细胞损伤、死亡或染色体重组。由于制备疫苗的减毒株的基因组已发生很大变异，限制了它在细胞中复制，所以，经疫苗感染的细胞中未见明显的染色体重组，而疫苗带有原来病毒的核酸，推测它仍具有诱发基因突变的潜在活性。

现已知道，脊髓灰质炎疫苗、流感疫苗也具有诱发中国仓鼠（V79）细胞HGPRT位点突变的活性，因此，减毒疫苗诱发基因突变的活性应引起足够的重视。

范秀媛
Fan Xiuyuan

（华北制药厂研究所 石家庄 050015）
(*Antibiotics Institute of North China Pharmaceutical Corperation, Shijiazhuang* 050015)

刘爱华 施立明
Liu Aihua Shi liming

（中国科学院昆明动物研究所）
(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica*)